

文章编号:1001-5914(2007)07-0550-03

双酚 A 对雄性生殖功能影响的研究进展

覃丹丹^{1,2}, 袁伟¹, 高尔生¹

摘要:近年来,有关环境类雌激素样物质双酚 A(BPA)对生殖功能影响的研究成为了热点。该文综述了 BPA 对雄性生殖器官形态、生殖内分泌功能和男性生殖功能的影响及其毒性作用机制的最新进展和观点,并结合众多的研究现状提出了 BPA 雄性生殖毒性研究未来的发展方向。

关键词:双酚 A; 雄性; 生殖毒性

中图分类号:R994.6

文献标识码:A

Effects of Bisphenol A on Male Reproductive Function QIN Dan-dan, YUAN Wei, GAO Er-sheng, Shanghai Institute of Planned Parenthood Research, Shanghai 200032, China

Abstract: Recently, to assess the reproductive effects of bisphenol A (BPA), the environmental estrogen, has become a focus of study. Investigations, to date, have focused on the effects on the reproductive system including the morphogenesis of tissues and organs, endocrine and the toxic mechanisms of action, particularly in males. Based on the study results concerning BPA's impacts on male reproduction, the further study directions in this field were presented in this paper.

Key words: Bisphenol A; Male; Reproduction toxicity

双酚 A(bisphenol A, BPA)的化学结构与雌激素类似,是已经被动物实验明确的环境雌激素,具有微弱的雌激素样作用及较强的抗雄激素样作用;对人类乳腺癌和子宫内膜癌的雌激素受体的亲和力弱于雌激素 10 000 倍;美国国家毒理学项目(National Toxicology Program, NTP)研究证实,BPA 为可疑的内分泌干扰物。截至 2005 年 7 月,在 130 项关于低剂量 BPA 的研究中,109 项研究发现其有危害作用^[1]。低剂量 BPA[$\leq 50 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$]对啮齿类动物影响的研究表明,BPA 可造成新生雄性动物睾丸激素分泌量减少^[2]、精子数量减少^[3]。BPA 的生殖毒理学研究日益受到重视,笔者综述了 BPA 对雄性生殖功能影响的研究结果和进展。

1 BPA 对生殖形态的影响

1.1 BPA 对雄性生殖形态的影响

BPA 对雄性生殖系统和生育力都有损害作用。BPA 以不同的染毒剂量和染毒方式染毒可导致不同的生殖毒性结局。有研究发现,低剂量 BPA 对睾丸重量的影响比高剂量更大^[4]。Tyl 等^[5]研究发现,经口染毒 750 ppm[$50 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$]的 BPA 对成年大鼠未产生不良的生殖效应;经口染毒 50 $\mu\text{g}/\text{d}$ BPA 的小鼠可出现精子活动率降低、畸形率升高^[6]。Ashby 等^[7]给 SD 大鼠喂食 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2 或 200 ng/kg 的 BPA,5 周后发现,每日生精量与睾丸重量(g)的比值下降。经口喂食 BPA 的最大无毒作用剂量是 200 $\text{ng}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。经皮下或腹腔注射 BPA 比喂食 BPA 对雄性生殖器官和附属性器官的毒性更大,20 $\text{ng}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 的 BPA 可使大鼠和小鼠的前列腺和输精管重量下降^[8]。大鼠经口染毒 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 375 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 BPA 可导致其背外侧前列腺重量下降,染毒 375 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 BPA 可导致其精子畸形;染毒 600 ng/kg 的 BPA 可导致其前列腺绝对重量减少^[9]。给成年大鼠喂食 25 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$

的 BPA 可导致其附睾的精子计数减少、睾丸和精囊的绝对重量减少^[10]。

有研究认为,BPA 的不良作用是可逆的。BPA 和雌二醇、17 β 雌二醇对睾丸作用相似,给大鼠和小鼠皮下注射 BPA 到青春期后,顶体颗粒和顶体核畸形依次出现在初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子;Sertoli 细胞和精细胞也同样受到影响;而精细胞分化出现部分或完全消失;但当动物发育成熟后,BPA 不再对睾丸有影响,并且这些动物仍可生育,故可认为,BPA 的雌激素样作用到其成年期后仍可逆转^[11]。Toyama 等^[12]给成年小鼠或大鼠皮下注射 20 或 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 BPA,发现精子顶体囊泡、顶体帽、顶体和顶体核及精囊严重畸形,停止染毒 2 个月后,其睾丸组织学形态和生育力恢复正常,提示 BPA 的不良作用较短暂。

1.2 BPA 对雄性子代生殖形态的影响

BPA 具有潜在的胚胎毒性和遗传毒性。NTP 的动物连续饲养的生殖评价(reproductive assessment by continuous breeding, RACB)实施方案证实,BPA 对 F1 代的生殖功能的影响表现为使其附睾和精囊重量显著减少^[13]。给 C57-BL6 大鼠喂食 139 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 的 BPA,其睾丸组织形态学发生改变,血浆游离睾酮浓度下降^[14]。

BPA 还可通过干扰大鼠的胎盘功能导致生殖系统疾病^[15]。暴露于 10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ BPA(低于人类孕妇的暴露水平)的怀孕小鼠产下的雄性小鼠其背外侧前列腺管的数目和大小及整个前列腺管体积增加,胎儿期暴露于环境内分泌干扰物可永久干扰细胞调控系统而导致大鼠前列腺上皮过度增殖,到成年期易引起前列腺疾病^[16]。

然而,BPA 对雄性仔鼠的不良效应有不不确定性。喂食 0.1 或 50 ng/kg 的 BPA 的孕鼠产下的雄性仔鼠的 Sertoli 细胞数与睾丸重量(g)的比值增加,而 Sertoli 细胞数与睾丸重量(g)却没有增加^[17]。此外,给 F344 雌性大鼠在其孕期和哺乳期喂食 7.5、120 $\text{ng}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 的 BPA,未发现其雄性仔鼠附属性腺器官发生任何畸形,而剂量为 120 $\text{ng}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 时,睾丸精子数减少,但仔鼠数增加后,精子数减少的效应不明显^[18]。

基金项目: Fogarty 国际中心资助项目(R25TW007509)

作者单位: 1.上海市计划生育研究所(上海 200032); 2.复旦大学公共卫生学院流行病学教研室(上海 200433)

作者简介: 覃丹丹(1974-),女,博士研究生,从事生殖流行病学研究。

通讯作者: 高尔生, Tel:(021) 64046106

2 BPA 对生殖内分泌功能的影响

从下丘脑-垂体-睾丸轴角度观察 BPA 对生殖内分泌功能的影响,国内外已经开展了一些研究,但结论有一定的差别。有研究发现,BPA 与雌二醇一样对雌激素受体具有独立的基因毒作用^[19]。Tohei 等^[20]研究发现,BPA 直接抑制睾丸功能引起血浆黄体生成素(LH)浓度升高是由于睾酮的负反馈作用所致,睾丸对 BPA 的反应比对下丘脑-垂体更敏感。BPA 对卵泡刺激素的负反馈抑制可减少支持细胞的数量^[21];通过降低血浆睾酮而导致青春期后的雄性大鼠精子减少^[22]。大鼠暴露于 2.4 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 的 BPA,可致其血清 LH、睾酮浓度下降,产下的雄性仔鼠到成年期后其睾丸间质液的睾酮浓度下降,提示围产期是 BPA 效应的窗口敏感期^[23]。以往的流行病学调查仅发现长期暴露高浓度 BPA 的男性工人尿中睾酮含量有降低的趋势^[24]。

给孕鼠管饲染毒 BPA, 4、40 和 400 mg/kg 组雄性仔鼠在 9 周龄时血浆睾酮高于对照组,而 LH 和卵泡刺激素(FSH)无变化;到 36 周龄时,其睾酮浓度以 BPA 剂量依赖方式增加,认为围产期暴露于 BPA 对雄性仔鼠维持体内睾酮动态平衡有一定的作用^[25]。

尽管 BPA 的雌激素样作用比雌激素弱,但它可提高体外垂体前叶细胞 PRL 基因表达、释放和细胞增殖,诱导雌激素敏感型 F344 大鼠过度分泌泌乳素的功效等同于雌激素^[26]。大鼠青春前期暴露于 BPA 可增加泌乳素的分泌,导致其成年期前列腺感染的发生^[27]。大鼠暴露于 BPA 在第 30 天表现出 PRL 增高,而在第 15 天表现出短暂的睾酮升高,这些结果支持了 BPA 在多层次对雄性生殖轴有短暂的或永久的年龄依赖型变化^[28]。

3 BPA 对男性生殖功能影响

关于 BPA 对人类生殖功能影响的研究不多。1999 年,上海研究人员发表了一篇关于 BPA 职业暴露对男性生殖功能影响的研究报告^[29],这是关于 BPA 对人类生殖功能影响的最初报告。结果发现,BPA 暴露工人性生活频率每周少于 1 次的相对危险度为 1.8(95%CI 为 0.8~4.3);暴露工人首次计划妊娠时间大于 1 a 者有 14.3%(对照组 12.5%);暴露组对象尿中的睾酮浓度 $[(4.06\pm 2.34) \text{ nmol}/\text{L}]$ 比对照组的睾酮浓度 $[(4.32\pm 3.20) \text{ nmol}/\text{L}]$ 低 6%。尽管该研究规模较小,尚不能有力证明中等强度的联系,但其结果提供了 BPA 对男性生殖功能影响的初步证据。

另有关于 33 名 BPA 男性暴露工人和当地 43 名男性对照者的研究发现,性激素(睾酮、雌二醇、卵泡刺激素、雄烯二酮)水平在暴露组和对对照组间差异无统计学意义,性激素水平与血清 BPA 水平无关联($P>0.1$),结论是 BPA 职业暴露后血清 BPA 水平明显上升,但 BPA 水平与性激素水平间无关联^[29]。

4 BPA 的毒性机制

4.1 直接毒性作用

BPA 能透过血睾屏障,进入睾丸组织直接损伤生精细胞、支持细胞和 Leydig 细胞的结构和功能;对精子发育和成熟有干扰和阻碍作用;对精子有直接毒性,导致精子数量减少、活力降低、畸形;诱发的精子畸变主要在精子头部,可能是由于 BPA 与精子 DNA 作用并干扰有关基因表达,进而影响精子的形成和发育^[30]。

4.2 对生精细胞的毒性作用

体外实验研究发现,BPA 与其他某些生殖毒物一样,能引

起染毒 BPA 小鼠的曲细精管内支持细胞与生精细胞分离,支持细胞减少,发生退化性变,生精细胞发生核固缩、空泡化。研究发现,BPA 能影响支持细胞的波形蛋白,导致支持细胞胞体变小、变狭长,认为 BPA 本身可直接作用于支持细胞而引起其波形蛋白消失或部分消失^[31]。

4.3 对初级精母细胞的毒性作用

小鼠经口染毒 BPA,染毒后第 14 天,325、650 mg/kg 组初级精母细胞染色体畸变率升高;第 35 天,精囊腺重量、精子数、活精率下降,静止不动的精子数、精子畸形率升高,呈明确的剂量-反应关系^[32]。BPA 代谢产物可使细胞核中的转录调节蛋白发生改变,抑制转录,引起转录周期改变,使细胞端粒融合及染色体畸变^[33]。

4.4 对 Leydig 细胞的毒性作用

有研究发现,高浓度的 BPA 对 Leydig 细胞有直接细胞毒作用并抑制其功能。随着 BPA 浓度的增加,细胞存活率及睾酮分泌量逐渐减少,当浓度达到 1.00 mmol/L 时 Leydig 细胞存活率和睾酮分泌量明显下降,表明较高浓度 BPA 对离体培养的 Leydig 细胞有直接的细胞毒性,推测 BPA 对精子发生的影响至少部分是通过抑制 Leydig 细胞功能导致生精细胞周围不能形成高浓度睾酮,进而导致生精过程障碍产生的。BPA 对 Leydig 细胞 DNA 具有损伤作用,染毒 24 h 后,随着 BPA 浓度的增高,Leydig 细胞彗星率及 DNA 损伤程度逐渐增加,且在 0.1 和 1.0 mmol/L 组出现 IV 级损伤,说明 BPA 可能对离体培养的 Leydig 细胞产生 DNA 损伤作用,但这种作用及机制尚需进一步研究证实^[34]。

4.5 联合毒性作用

BPA 和体内天然雌激素有相加作用,可引起不良健康结局^[35]。BPA 还可与其他环境内分泌干扰物如壬基酚(NP)产生联合毒作用,两者的损伤部位和机制相近,均可透过血睾屏障进入睾丸组织,影响生精细胞、支持细胞和间质细胞的功能,使精子的生成和发育受到损害,精子计数减少,精子活动度和活精率下降,混合染毒对小鼠生精功能及生殖力的损伤有相加作用,故在评价 BPA 毒性作用时需考虑它与其他内分泌干扰物的相互作用^[36]。

5 小结

以上结果提示:(1) BPA 具有微弱的雌激素样作用;(2) BPA 具有较强的抗雄激素作用;(3) BPA 对生殖器官及其功能都有影响;(4) 低浓度的 BPA 对暴露人群仍具有类激素样作用。

目前关于 BPA 对雄性生殖功能的毒性评价研究(尤其是生殖毒理学研究)取得了一定的成绩,但在许多方面尚无肯定的结论,且存在不少亟待解决的问题:(1) 研究多集中于动物实验,对人类生殖功能影响的研究较少;(2) 以急性毒性实验、亚急性毒性实验为主,低剂量慢性毒性实验和联合毒性实验较少;(3) 研究结果存在着不确定性,单一机制并不能完全解释 BPA 的毒性。

BPA 的人群流行病学研究资料相对较少,在 BPA 对人类生殖功能影响的研究中应注意以下几个问题:(1) 积累更多的 BPA 对生殖功能影响的现场流行病学人群调查资料;(2) 评估 BPA 对非职业暴露人群生殖健康状况的影响;(3) 进一步研究探讨并建立 BPA 生殖毒性评价的模型;(4) 对 BPA 的生殖功能影响效应是否可逆转进行进一步的研究。随着人们对生殖健康的进一步关注及生殖毒理学技术和研究手段的不断进步和完善,对 BPA 的生殖功能影响的研究必将取得更大的进展。

参考文献:

- [1] Welshons WV, Nagel SC, vom Saal FS. Large effects from small exposures: III endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *J. Endocrinology*, 2006,147: 556- 569.
- [2] Kawai K, Takehiro N, Nishikata H, et al. Aggressive behavior and serum testosterone concentration during the maturation process of male mice: the effects of fetal exposure to bisphenol A. *J. Environ Health Perspect*, 2003,111:175- 178.
- [3] Sakaue M, Ohsako S, Ishimura R, et al. Bisphenol A affects spermatogenesis in the adult rat even at a low dose. *J. J Occup Health*, 2001,43:185- 190.
- [4] Takao T. Exposure with the environmental estrogen bisphenol A, disrupts the male reproductive tract in young mice. *J. Life Sci*, 1999, 65:2351- 2357.
- [5] Tyl RW, Myers CB, Marr MC, et al. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *J. Toxicol Sci*, 2002, 68:121- 146.
- [6] Aikawa H, Koyama S, Matsuda M, et al. Relief effect of vitamin A on the decreased motility of sperm and the increased incidence of malformed spermin mice exposed neonatally to bisphenol A. *J. Cell Tissue Res*, 2004, 315:119- 124.
- [7] Ashby J, Tinwell H, Lefevre PA, et al. The effect on sperm production in adult Sprague-Dawley rats exposed by gavage to bisphenol A between postnatal days 91- 97. *J. Toxicol Sci*, 2003,74:129- 138.
- [8] Takahashi O, Oishi S. Testicular toxicity of dietarily or parenterally administered bisphenol A in rats and mice. *J. Food Chem Toxicol*, 2003, 41:1035- 1044.
- [9] Yamasaki K, Takeyoshi M, Noda S, et al. Changes of serum alpha 2u-globulin in the subacute oral toxicity study of ethynyl estradiol and bisphenol A based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline No. 407'. *J. Toxicology*, 2002, 176:101- 112.
- [10] Al-Hiyasat AS, Damani H, Elbetieha AM. Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. *J. Eur J Oral Sci*, 2002,110:163- 167.
- [11] Toyama Y, Yuasa S. Effects of neonatal administration of 17beta-estradiol, beta-estradiol 3-benzoate, or bisphenol A on mouse and rat spermatogenesis. *J. Reprod Toxicol*, 2004, 19:181- 188.
- [12] Toyama Y, Suzuki-Toyota F, Maekawa M, et al. Adverse effects of bisphenol A to spermiogenesis in mice and rats. *J. Arch Histol Cytol*, 2004, 67:373- 381.
- [13] Chapin RE, Sloane RA. Reproductive assessment by continuous breeding: evolving study design and summaries of ninety studies. *J. Environ Health Perspect*, 1997,105: 199- 205.
- [14] Takao T, Nanamiya W, Nagano I, et al. Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *J. Life Sci*, 1999, 65:2351- 2357.
- [15] Lee CK, Kim SH, Moon DH, et al. Effects of bisphenol A on the placental function and reproduction in rats. *J. J Prev Med Pub Health*, 2005, 38:330- 336.
- [16] Timms BG, Howdeshell KL, Barton L, et al. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *J. Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 7014- 7019.
- [17] Wistuba J, Brinkworth MH, Schlatt S, et al. Intrauterine bisphenol A exposure leads to stimulatory effects on Sertoli cell number in rats. *J. Environ Res*, 2003, 91:95- 103.
- [18] Yoshino H, Ichihara T, Kawabe M, et al. Lack of significant alteration in the prostate or testis of F344 rat offspring after transplacental and lactational exposure to bisphenol A. *J. J Toxicol Sci*, 2002, 27:433- 439.
- [19] Iso T, Watanabe T, Iwamoto T, et al. DNA damage caused by bisphenol A and estradiol through estrogenic activity. *J. Biol Pharm Bull*, 2006, 29:206- 210.
- [20] Tohei A, Suda S, Taya K, et al. Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult male rats. *J. Exp Biol Med (Maywood)*, 2001,226:216- 221.
- [21] 靳翠红,赵剑,金一和,等. 双酚 A 对雄性小鼠生殖系统影响. *J. 卫生毒理学杂志*, 2002,16(1): 39- 42.
- [22] Herath CB, Jin W, Watanabe G, et al. Adverse effects of environmental toxicants, octylphenol and bisphenol A, on male reproductive functions in pubertal rats. *J. Endocrine*, 2004, 25:163- 172.
- [23] Akingbemi BT, Sottas CM, Koulouva AI, et al. Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *J. Endocrinology*, 2004,145:592- 603.
- [24] 王旭平,任道凤,逢兵,等. 男工接触双酚 A 的雌激素样作用调查报告. *J. 职业卫生与应急救援*, 1999,17(1):15- 16.
- [25] Watanabe S, Wang RS, Miyagawa M, et al. Imbalance of testosterone level in male offspring of rats perinatally exposed to bisphenol A. *J. Ind Health*, 2003, 41:338- 341.
- [26] Steinmetz R, Brown NG, Allen DL, et al. The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release in vitro and in vivo. *J. Endocrinology*, 1997,138:1780- 1786.
- [27] Stoker TE, Robinette CL, Britt BH, et al. Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat: effects on the adult prostate. *J. Biol Reprod*, 1999, 61:1636- 1643.
- [28] Ramos JG, Varayoud J, Kass L, et al. Bisphenol a induces both transient and permanent histofunctional alterations of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in prenatally exposed male rats. *J. Endocrinology*, 2003, 144:3206- 3215.
- [29] 肖国兵,石峻岭,何国华,等. 环氧树脂生产工人血清双酚 A 与性激素水平的调查. *J. 环境与职业医学*, 2005, 22(4):295- 298.
- [30] Chitra KC, Latchoumycandane C, Mathur PP. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *J. Toxicology*, 2003, 185:119- 127.
- [31] 邓茂先,吴德生,陈祥贵,等. 双酚 A 雄性生殖毒性的体内外实验研究. *J. 中华预防医学杂志*, 2004, 38(6):383- 387.
- [32] 张玉敏,崔金山,段志文,等. 环境雌激素双酚 A 对小鼠生精功能的影响. *J. 工业卫生与职业病*, 2004, 30(5):296- 299.
- [33] Du Mond JW, Singh KP, Roy D. The biphasic stimulation of proliferation of Leydig cells by estrogen exposure. *J. Int J Oncol*, 2001, 18: 623- 628.
- [34] 逢兵,吴向东,任道凤,等. 双酚 A 对大鼠睾丸 Leydig 细胞的毒性作用. *J. 卫生毒理学杂志*, 2000, 14(3):173- 174.
- [35] Rajapakse N, Ong D, Kortenkamp A. Defining the impact of weakly estrogenic chemicals on the action of steroidal estrogens. *J. Toxicol Sci*, 2001, 60:296- 304.
- [36] 崔金山,张玉敏,段志文,等. 双酚 A 与壬基酚混合染毒对小鼠生精功能的影响. *J. 工业卫生与职业病*, 2004, 30(5):289- 292.

(收稿日期: 2007-02-29)

(本文编辑: 高申)

本刊设立稿件查询接待日的启事

为了方便作者查询投稿处理情况, 本刊安排每周二、四为稿件查询接待日, 届时将有专人为作者提供稿件查询服务, 专线电话: (022) 24333571。

本刊编辑部